



ВЕЛАНСКИЙ ПЕТР ВЛАДИМИРОВИЧ

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЛИПИДОВ РЫБ
КАК АДАПТАЦИЯ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

03.02.08 – экология

03.01.04 – биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена на отделении биохимии и биотехнологии Академии экологии, морской биологии и биотехнологии Дальневосточного федерального университета МОН РФ.

Научный руководитель

**доктор биологических наук,
профессор
Костецкий Эдуард Яковлевич**

Официальные оппоненты

**доктор биологических наук
Лукьянова Ольга Николаевна**

**доктор биологических наук,
профессор
Васьковский Виктор Евгеньевич**

Ведущая организация

**Институт биологии моря
им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток**

Защита состоится 25 декабря 2010 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 212.056.02 при Дальневосточном федеральном университете МОН РФ по адресу 690091, г. Владивосток, ул. Октябрьская, 27, ауд. 435.

**Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 690091, г. Владивосток, ул. Октябрьская, 27, комн. 417, кафедра общей экологии.
Факс: (4232) 45-94-09, E-mail: marineecology@rambler.ru**

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Дальневосточного федерального университета МОН РФ

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000581772

Автореферат разослан 24 ноября 2010 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук**

Ю.А. Галышева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Среди факторов внешней среды температура оказывает наибольшее воздействие на физические параметры биологических мембран. Особенно большое значение этот фактор имеет для эктотермных организмов, в том числе рыб, что делает их удобными модельными объектами для изучения термоадаптационных механизмов, в том числе изменения состава липидов биологических мембран. Современное представление о процессах температурной акклимации в мембранах основано на концепции гомеовязкостной адаптации, предполагающей поддержание жидкокристаллического состояния липидного матрикса, необходимого для оптимального функционирования клеток в условиях изменения температуры (Sinensky, 1974). Адаптационная перестройка состава липидов мембран включает изменения в соотношении полярных групп, жирнокислотных цепей фосфолипидов и количестве холестерина. При этом скорость изменения различных параметров структурных липидов различна; некоторые перестройки происходят уже через часы, другие проявляются лишь через недели. Недавние исследования выявили гетерогенность биологических мембран и наличие микродоменов со специфическим липидным составом и определенными функциями (Simons, Ikonen, 1997; Kusumi, Suzuki, 2005). Соответственно, вполне логично предположить, что в разных мембранных доменах адаптационные процессы протекают по-разному. На механизмы температурной адаптации несомненно сказывается принадлежность конкретной мембраны к определенным клеточным структурам, ткани и органу. Кроме того, различные механизмы температурной адаптации состава липидов отличаются скоростью проявления и степенью выраженности в естественной среде и при экспериментальной акклимации. Таким образом, термоадаптация липидного матрикса представляется достаточно сложным процессом, закономерности которого до конца не выявлены, что требует дальнейших исследований в этой области.

К настоящему времени выполнено множество работ, посвященных термоадаптационным механизмам, направленным на перестройку липидного состава клеточных мембран эктотермных организмов, в том числе рыб (Hazel, Prosser, 1974; Hazel, Landrey, 1988; Buda et al., 1994; Logue et al., 2000; Käkälä et al., 2008). В качестве объектов исследования, как правило, используют пресноводные виды: карп, радужная форель. Работ, посвященных механизмам адаптации у морских рыб, значительно меньше (Ventrella et al., 1993; Moya-Falcón et al., 2006).

В большинстве работ по температурной акклимации авторы исследуют влияние температуры на определенные характеристики мембранных липидов: состав ФЛ, состав ЖК и молекулярных видов ФЛ, количество холестерина (Cossins, 1976; Hazel, Landrey, 1988; Buda et al., 1994). Однако совокупно все эти характеристики не исследовались. В то же время очевидно, что суммарный эффект воздействия изменений состава липидов на физические параметры мембран определяется вкладом всех компонентов. Таким образом, для раскрытия механизмов адаптации к температуре необходим как можно более полный анализ состава структурных липидов мембран.

Используемые сокращения: ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГЖХ – газожидкостная хроматография; ДФГ – дифосфатидилглицерин; ЖК – жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; МС – масс-спектрометрия; МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот; НЖК – насыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; СМ – сфингомиелин; ТСХ – тонкослойная хроматография; ФИ – фосфатидилинозит; ФЛ – фосфолипиды; ФС – фосфатидилсерин; ФХ – фосфатидилхолин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; ХЛ – холестерин

Цель работы: Изучить влияние температуры среды обитания на состав структурных липидов в органах рыб различных экологических групп. Сравнить изменения состава липидов органов рыб при долговременной сезонной акклиматизации и быстрой смене температурного режима (акклимации) в экспериментальных условиях.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние низких температур на состав липидов мышц, печени и жабр различных видов рыб, как реакцию на условия среды.
2. Исследовать изменения состава липидов мышц, печени и жабр рыб различных экологических групп при сезонной акклиматизации.
3. Установить влияние резкой смены температуры среды обитания (акклимации) на состав липидов мышц, печени и жабр полупроходного вида – мелкочешуйной красноперки и морского вида – темной камбалы.

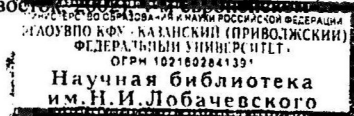
Положения, выносимые на защиту:

1. Акклиматизация к повышению температуры естественной среды обитания приводит к увеличению содержания главных липидных компонентов микродоменных структур (ХЛ, СМ и алкильных видов ФХ), в то время как акклимация к быстрому повышению температуры среды обитания вызывает понижение содержания главных липидных компонентов микродоменных структур в мышцах и печени рыб.
2. Сезонная акклиматизация и акклимация к быстрой смене температуры среды обитания реализуются через различные перестройки состава молекулярных видов ФХ и ФЭ у рыб.
3. Резкое изменение температуры среды обитания приводит к повышению количества 16:0, 16:1 ω 7, 18:1 ω 9 ЖК в нейтральных липидах и главных ФЛ у морских и полупроходных рыб.

Научная новизна: Проведено сравнительное исследование адаптации к изменениям температуры среды обитания состава липидов мышц, печени и жабр трех видов рыб из трех семейств: керчака-яок, темной камбалы и мелкочешуйной красноперки и сравнительное исследование состава липидов мышц, печени и жабр семи видов рыб из пяти семейств при низкой температуре среды обитания: дальневосточной наваги, малоротца Стеллера, шлемоносца Герценштейна, голубого морского окуня, одноперого терпуга, трески и минтая. Установлены особенности состава липидов как отдельных видов рыб, так и органов. Выявлены механизмы температурной адаптации при сезонной акклиматизации и экспериментальной акклимации на разных уровнях организации у исследованных видов. Выявлено, что как резкое повышение, так и резкое понижение температуры среды обитания приводят к увеличению содержания продуктов липогенеза и Δ 9-десатураз в нейтральных липидах и главных ФЛ камбалы. Показано, что мелкочешуйная красноперка способна синтезировать ω 3 и ω 6 ПНЖК при акклимации к низким температурам среды обитания в условиях голодания.

Полученные данные расширяют представление о механизмах адаптации состава липидов к изменениям температуры среды обитания у рыб. Результаты работы включены в курс лекций по липидологии для студентов АЭМББТ ДВФУ.

Апробация результатов. Результаты диссертации были представлены на 5-й региональной конференции по актуальным проблемам экологии, морской биологии и биотехнологии (Владивосток, 2002), конференции НОЦ ДВГУ "Морская биота" (Владивосток, 2003), на 1-м Международном симпозиуме по физическому конгрессе (Аликанте, Испания,



2003), 18-м международном конгрессе по биохимии и молекулярной биологии (Бирмингем, Англия, 2003), международной научно-практической конференции по экологическим проблемам использования прибрежных морских акваторий (Владивосток, 2006), 15-й международной экологической конференции (Новосибирск, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 113 страницах и содержит 37 таблиц, 12 рисунков. Список цитируемой литературы включает 338 работ, из них 328 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

I. Обзор литературы. В главе показаны особенности метаболизма липидов у различных экологических групп рыб и влияние на него температуры окружающей среды. Рассмотрено влияние факторов окружающей среды на состав липидов мембран эктотермных организмов, в том числе рыб, в рамках концепции гомеовязкостной адаптации.

II. Материалы и методы исследования. Для оценки влияния низких температур обитания на состав липидов различных органов выбраны 10 видов рыб из различных семейств (табл. 1). Для исследования сезонной акклиматизации были отобраны: темная камбала, мелкочешуйная красноперка и керчак-яок, из них камбала

Таблица 1. Рыбы – объекты исследования

Семейство	Вид	Дата вылова	Место вылова	Глубина, м	t°, C
Тресковые (<i>Gadidae</i>)	Дальневосточная навага <i>Eleginus gracilis</i> (Tilesius, 1810)	03.10.2001	зал. Петра Великого	50	3.4
	Треска тихоокеанская <i>Gadus macrocephalus</i> (Tilesius, 1810)	13.10.2003	зал. Олюторский	298	4.1
	Минтай <i>Theragra chalcogramma</i> (Pallas, 1811)	11.10.2003	зал. Олюторский	240	4.1
Терпуговые (<i>Hexagrammidae</i>)	Терпуг одноперый северный <i>Pleurogrammus monopterygius</i> (Pallas, 1810)	23.10.2003	зал. Олюторский	167	6.1
Скорпеновые (<i>Scorpaenidae</i>)	Окунь голубой морской <i>Sebastes glaucus</i> (Hildendorf, 1880)	30.10.2003	зал. Олюторский	142	4.3
Керчаковые (<i>Cottidae</i>)	Шлемоносец Герценштейна <i>Gymnocanthus herzensteini</i> (Jordan et Starks, 1904)	03.10.2001	зал. Петра Великого	50	3.4
	Керчак-яок	10.03.2002	зал. Восток	3	0
	<i>Muchocephalus jaok</i> (Cuvier, 1829)	25.06.2006 06.08.2008	б. Киевка б. Киевка	4 4	9 18
Камбаловые (<i>Pleuronectidae</i>)	Малорот Стеллера <i>Glyptocephalus stelleri</i> (Schmidt, 1904)	03.10.2001	зал. Петра Великого	50	3.4
	Темная камбала	10.03.2002	зал. Восток	3	0
	<i>Pleuronectes (Liopsetta) obscura</i> (Herzenstein, 1891)	25.06.2006 10.08.2008	б. Киевка б. Киевка	4 4	9 18
Карповые (<i>Cyprinidae</i>)	Мелкочешуйная красноперка	25.11.2004	р. Раздольная	1	0
	<i>Tribolodon brandii</i> (Dybowski, 1872)	29.06.2006	б. Киевка	4	9
		28.07.2002 20.08.2002	зал. Восток б. Киевка	3 4	14 18

и красноперка были использованы в эксперименте по акклимации. В ходе эксперимента по акклимации рыбы, выловленные в б. Киевка Японского моря при температуре воды 18°C были помещены в аквариум с температурой 18°C. После чего воду сначала нагревали с 18 до 23°C за 12 ч, а затем охлаждали до 9°C со скоростью 2°C в сутки. Образцы органов отбирались при температурах 18°C (начальная стадия), 23, 15 и 9°C. Для темной камбалы дополнительно был проведен эксперимент по охлаждению, при котором рыбу, выловленную при 18°C, сразу помещали в аквариум с водой, охлажденной до 10°C, и производили отбор проб через 8 часов. Во всех случаях в аквариуме поддерживалась постоянная аэрация, животных не кормили.

Для приготовления липидных экстрактов брали не менее трех особей, экстракцию липидов проводили по методу Фольча (Folch et al., 1957). Препаративное разделение и количественный анализ фосфолипидов и холестерина проводили при помощи ТСХ (Rouser et al., 1966) или ВЭЖХ (Stith et al., 2000). Жирные кислоты анализировали в виде метиловых эфиров методом ГЖХ. Определение состава молекулярных видов ФХ и ФЭ осуществлялось при помощи ВЭЖХ-МС на обращенной фазе, с ионизацией в электроспрее. Статистическая обработка проводилась при помощи программы Microsoft Excel.

III. Результаты и обсуждение.

Состав липидов органов рыб, обитающих при низких температурах. Был проведен количественный анализ холестерина и фосфолипидов в различных органах шести видов рыб, взятых при низких (0 – 3.4°C) температурах. Содержание ФХ в среднем составило 59.9, 59.3%, 52.5%, ФЭ – 26.5, 26.0, 23.4% в мышцах, печени и жабрах соответственно. Среднее количество СМ возрастало в ряду мышцы – печень – жабры (2.9, 4.9, 10.1%, соответственно). Содержание ФИ и ДФГ в мышцах, печени и жабрах довольно близкое и в среднем составляет 5.4 – 5.6 – 4.6% для ФИ и 1.5 – 1.1 – 1.4% для ДФГ. Наибольший средний уровень ФС обнаружен в жабрах – 5.8% против 2.7% в мышцах и печени.

Молярное соотношение ХЛ/ФЛ возрастает в ряду мышцы (0.09 – 0.21) – печень (0.17 – 0.32) – жабры (0.34 – 0.71). Высокое соотношение ХЛ/ФЛ в жабрах отчасти связано с тем, что ХЛ упорядочивает гидрофобную часть мембран, тем самым понижая ее осмотическую проницаемость. ХЛ совместно со СМ составляет основу мембранных микродоменов во внешнем монослое мембран, поэтому распределение этих липидов может быть взаимосвязано. Из полученных результатов видно, что концентрация ХЛ и СМ синхронно возрастает в ряду мышцы – печень – жабры во всех исследованных видах, что, вероятно, отражает количество микродоменов в данных органах. Повышенное количество этих структур именно в жабрах можно объяснить тем, что мембранных микродоменах локализованы многие ион-транспортные процессы (Tillman, Cascio, 2003).

Анализ состава ЖК ФХ холодноводных видов показал, что главными ЖК являются 16:0, 20:5 ω 3, 22:6 ω 3. Максимальное содержание 20:5 ω 3 и 22:6 ω 3 характерно для мышц, минимальное для жабр. В ЖК составе ФХ наблюдается закономерность в повышении среднего уровня ПНЖК и понижении уровня МНЖК и НЖК в ряду жабры - печень - мышцы. В ФЭ главными являются ЖК 22:6 ω 3, 20:5 ω 3, 16:0, 18:1 ω 9 и 18:1 ω 7. Закономерность распределения ЖК по органам та же, что и для ФХ: повышение уровня ПНЖК в ряду жабры - печень – мышцы и незначительное понижение в том же ряду уровня МНЖК и НЖК. В целом, ФЭ более ненасыщенный ФЛ, чем ФХ, уровень НЖК в ФЭ ниже в 1.2 – 2.5 раза. Уровень МНЖК в ФЭ во всех органах выше в 1.1 – 2 раза за счет кислот 18:1 (особенно 18:1 ω 7), содержание же

МНЖК 16:1 выше в ФХ. В мышцах и жабрах ФЭ содержит больше ПНЖК, чем ФХ, в то время как в печени этот показатель сходный. При этом в ФХ мышц и печени больше ЖК 20:5 ω 3, чем в ФЭ, а уровень ЖК 22:6 ω 3 во всех органах в ФЭ выше, чем в ФХ. Приведенные различия в составе ЖК ФХ и ФЭ отмечены и в других исследованиях и, по-видимому, являются характерными для костистых рыб (Glemet, Ballantyne, 1996; Glemet et al., 1997). Такие особенности состава ЖК ФХ и ФЭ имеют явную функциональную основу. При одинаковой насыщенности ЖК радикалов температура плавления ФЭ выше, чем ФХ, но при повышении степени ненасыщенности температуры плавления ФХ и ФЭ сближаются. Можно предположить, что более высокая ненасыщенность ФЭ компенсирует различия в температурах фазового перехода этих двух главных фосфолипидов.

Межвидовые различия состава ЖК позволяют выделить виды с высоким уровнем ЖК 22:6 ω 3 в ФХ и ФЭ: минтай, терпуг, окунь и навага. Предполагается, что ЖК 22:6 ω 3 не участвует в регуляции вязкости мембран при термоадаптации, а ее уровень зависит от интенсивности метаболизма, т.е. в большинстве случаев непосредственно от двигательной активности рыб (Buda et al., 1994; Забелинский и др., 1995). Среди исследованных нами видов, максимальное количество 22:6 ω 3 выявлено в придонно-пелагических видах рыб, ведущих более активный образ жизни (минтай, терпуг, навага) по сравнению с донными видами. Исключением является морской окунь, в котором выявлено максимальное содержание в ФЛ мышц как 22:6 ω 3, так и ПНЖК вообще, по сравнению с остальными исследованными видами. Высоким содержанием ω 7 МНЖК (16:1 ω 7 и 18:1 ω 7) в жабрах и печени и отличаются виды семейства *Cottidae* – керчак-яок и шлемоносец Герценштейна. Повышенным количеством 20:5 ω 3 выделяются печень и мышцы шлемоносца, а также жабры керчака.

Для мышц рыб из Берингова моря отмечено, что суммарное содержание МНЖК в ФХ и ФЭ возрастает с глубиной вылова, что, по-видимому, обусловлено действием повышенного давления на мембраны, схожим с воздействием низких температур.

Сезонные изменения состава липидов органов рыб. Обнаружены определенные зависимости состава липидов органов рыб от температуры среды (рис. 1). Показана обратная зависимость между температурой и содержанием ФЭ (исключение – жабры камбалы). Прямая зависимость количества ФХ от температуры наблюдалась только в жабрах красноперки и мышцах камбалы, в остальных случаях его концентрация не коррелирует с температурой. Однако при этом соотношение ФЭ/ФХ стабильно возрастает при понижении температуры среды обитания во всех органах всех исследованных нами видов. Изменение соотношения ФЭ/ФХ является частью механизма гомеовязкостной адаптации, вследствие изменения баланса между небислойными, образующими гексагональную фазу и бислойными, т.е. образующими ламеллярную фазу ФЛ. ФЭ характеризуется конической формой молекулы, а ФХ цилиндрической, вследствие различий, вносимых размером полярной части, и, в меньшей степени, гидрофобными цепями (Wieslander et al., 1980, 1981). Эти различия в форме молекул являются причиной того, что ФХ способен образовывать стабильную ламеллярную фазу, в отличие от ФЭ, который склонен к образованию гексагональной фазы (Harlos, Eibl, 1980).

Холестерин, благодаря своему стабилизирующему воздействию на упаковку бислоя может иметь большое значение для компенсации снижения упорядоченности гидрофобных цепей, при повышении температуры среды обитания (Davis et al., 1980; Crockett, 1998). Нами показано, что соотношение ХЛ/ФЛ возрастает с повышением

температуры среды обитания в мышцах и печени всех видов. Менее всего уровень ХЛ меняется у камбалы (в 1.4 раза в мышцах и в 1.3 раза в печени при повышении температуры с 0 до 18°C), больше всего у керчака (в 1.6 и 3.5 раз, соответственно). В жабрах камбалы соотношение ХЛ/ФЛ снижается с повышением температуры, в жабрах красноперки и керчака – возрастает. Исключение составляет образец жабр

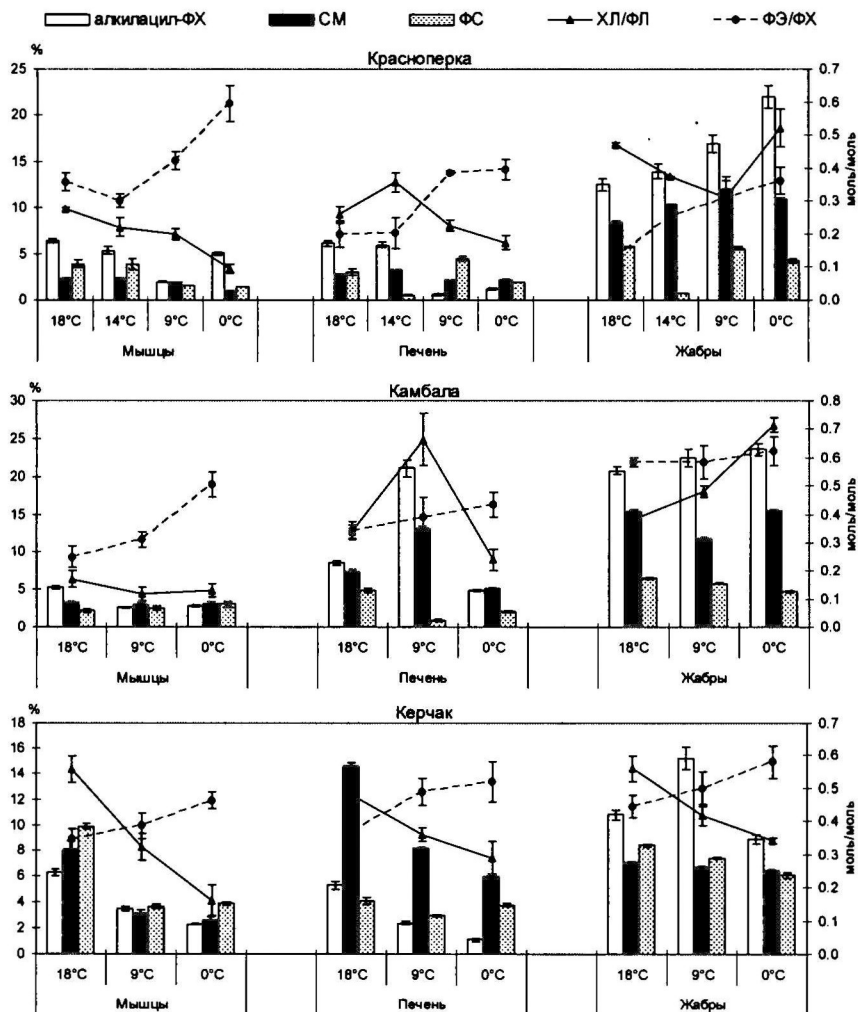


Рис. 1. Изменения содержания алкилацильных форм ФХ (% от суммы ФХ), СМ и ФС (% от суммы ФЛ) и молярных соотношений ХЛ/ФЛ и ФЭ/ФХ в органах красноперки, камбалы и керчака в ходе сезонной акклиматизации

красноперки, взятый при 0°C, где этот показатель резко возрастает (с 0.31 при 9°C до 0.52 моль/моль при 0°C). Судя по - всему, здесь сказывается тот факт, что данный образец взят в пресной воде. Известно, что ХЛ понижает проницаемость мембран для воды (Robertson, Hazel., 1999), и может влиять на интенсивность активного ионного транспорта: увеличение количества ХЛ в жабрах красноперки может приводить к снижению активности Na⁺/K⁺-АТФазы в ходе адаптации к пониженной солености (Tipmark, 2002).

Содержание СМ также в большинстве случаев возрастает при повышении температуры среды обитания. В жабрах всех видов, отличающихся наибольшим содержанием СМ, этот ФЛ проявляет наименьшую зависимость от температуры.

Относительное содержание ФС также имеет прямую зависимость от температуры среды обитания в большинстве исследованных органов.

ДФГ локализован исключительно во внутренней мембране митохондрий, поэтому увеличение содержания этого ФЛ напрямую связано с ростом числа митохондрий или пролиферацией внутренней мембраны. Известно, что акклиматизация к холоду у рыб может сопровождаться компенсационной адаптацией аэробных процессов, что приводит к увеличению количества митохондрий и повышению активности митохондриальных ферментов (Pörtner, 2002; Guderley, 2004), и, соответственно возрастанию концентрации ДФГ. В ходе сезонной акклиматизации увеличение содержания ДФГ при снижении температуры наблюдалось в мышцах камбалы и керчака, в мышцах красноперки уровень этого ФЛ практически не изменялся. В печени камбалы и керчака понижение температуры с 18 до 9°C сопровождается увеличением содержания ДФГ (в 1.1 и 1.6 раз, соответственно), что свидетельствует о возможной компенсационной адаптации клеточного дыхания. Однако снижение температуры среды с 9 до 0°C приводит к снижению концентрации ДФГ в этих образцах (в 2.5 и 1.2 раз). В печени и жабрах красноперки концентрация этого ФЛ резко уменьшается (с 3.9 до 1.2% и с 4.2 до 1.5%, соответственно) при понижении температуры среды обитания с 14 до 9°C. В жабрах камбалы и керчака прослеживается прямая зависимость концентрации ДФГ от температуры среды обитания. Снижение концентрации ДФГ при понижении температуры среды, можно объяснить падением общей физиологической активности при низких температурах, характерным для некоторых видов.

В сезонной изменчивости состава липидов хорошо прослеживаются межвидовые отличия. Так, изменения показателя количества СМ и соотношения ХЛ/ФЛ во всех органах рыб сильнее проявляется у керчака, а содержание ФЭ при снижении температуры среды обитания наиболее сильно возрастает у красноперки. Повидимому, состав липидов органов стенотермных видов, на примере камбалы, свидетельствует о его наименьшей зависимости от температуры среды обитания, в сравнении с другими видами.

Рассмотрение суммарных показателей состава ЖК ФХ различных органов трех исследованных видов рыб в течение сезона не позволило выявить какую-либо устойчивую зависимость от температуры. Можно отметить, что содержание ωЗ ПНЖК возрастает с понижением температуры в мышцах всех видов, печени и жабрах красноперки и жабрах керчака

ЖК состав ФЭ органов красноперки, камбалы и керчака имеет более выраженную зависимость от температуры среды обитания. Все органы исследованных видов (за исключением печени камбалы) характеризуются понижением уровня МНЖК при повышении температуры среды. Кроме того, во всех

органах камбалы и керчака с повышением температуры возрастает количество суммарных ПНЖК, что касается кислот как $\omega 6$, так и $\omega 3$ ряда. Во всех органах красноперки уровень $\omega 3$ ПНЖК в ФЭ увеличивается при низкой температуре среды обитания (главным образом за счет ЖК 20:5 $\omega 3$), а сумма $\omega 6$ ПНЖК не изменяется. Содержание суммарных НЖК в ФЭ всех органов красноперки и жабрах керчака увеличивается при повышении температуры среды обитания, а в жабрах и печени камбалы отмечается обратная зависимость.

Влияние температуры среды обитания на состав ЖК суммарной фракции нейтральных липидов практически не прослеживается. Исключение составляют все органы камбалы и керчака, где концентрация ЖК 22:5 $\omega 3$ уменьшается при понижении температуры среды обитания, причем при 0°C эта ЖК фактически исчезает. Обращает внимание неравномерность распределения некоторых ЖК в течение сезона, что может являться отражением влияния липидов, потребляемых с пищей.

Таким образом, изменения состава ЖК главных ФЛ исследованных видов в естественной среде обитания не дают представления о происходящих термоадаптационных перестройках гидрофобной части мембран. Влияние таких факторов, как состав диетарных липидов, физиологическое состояние, иные условия внешней среды (насыщение воды кислородом, соленость) накладывается друг на друга и не позволяет оценить протекание непосредственно термоадаптации. Это привело к необходимости изучения механизмов термоадаптации на уровне молекулярных видов этих ФЛ.

Исследование состава молекулярных видов ФХ красноперки, камбалы и керчака показало, что главными видами во всех органах являются 16:0/18:1, 16:0/20:5, 16:0/22:6, 18:1/20:5, 18:1/22:6. Виды НЖК/НЖК присутствуют в следовых количествах и наиболее характерны для жабр. Жабры также богаты НЖК/МНЖК и МНЖК/МНЖК ФХ. В печени и мышцах суммарное количество НЖК/МНЖК в ФХ находится в пределах 4.8 – 18.8%, а МНЖК/МНЖК – 0.4 – 3.8%. Печень и мышцы отличаются высоким уровнем НЖК/ПНЖК, достигающим 73.8 и 65.5%, соответственно. При этом в мышцах содержится больше таких видов с ЖК 22:5, а в печени с 22:6. Распределение молекулярных видов МНЖК/ПНЖК в ФХ показывает, что количество МНЖК/20:4 выше в жабрах, а МНЖК/22:6 – в печени. Максимальный уровень ПНЖК/ПНЖК наблюдается в мышцах, где он составляет 3.2 – 13.2%. Из этерных форм в ФХ преобладают алкилацильные, максимальное содержание которых характерно для жабр и находится в пределах 8.9 – 23.6%. Алкенилацильных (плазмалогенных) форм гораздо меньше и наиболее богаты ими мышцы (0.3 – 2.0%).

Сезонные изменения температуры среды обитания коррелируют как с содержанием отдельных молекулярных видов ФХ, так и суммарными показателями (рис. 2). Суммарное содержание НЖК/НЖК и НЖК/МНЖК ФХ во всех случаях уменьшается при понижении температуры. При этом 16:0/18:1 – единственный из главных молекулярных видов ФХ показывает зависимость концентрации от температуры во всех органах всех исследованных видов рыб. Сумма ПНЖК/ПНЖК ФХ также уменьшается при понижении температуры в мышцах всех видов, в то время как в других органах четкой корреляции с температурой среды обитания не отмечено. Количество МНЖК/МНЖК ФХ при снижении температуры возрастает в жабрах всех видов.

Общее количество НЖК/ПНЖК ФХ возрастает при понижении температуры среды обитания в мышцах всех видов и жабрах камбалы и керчака, а в жабрах

температуры и имеют одинаковую направленность в мышцах и печени. Изменения температуры вызывают рост количества 16:1 ω 7 и 18:1 ω 9 у камбалы и краснопёрки и 16:0 у камбалы. При этом уровень 16:1 ω 7 повышается сильнее, чем 18:1 ω 9, что, видимо, связано с доступностью субстрата для десатураз (содержание ЖК 16:0 значительно выше, чем 18:0 в нейтральных липидах и ФХ рыб). В жабрах камбалы уровень 16:1 ω 7 и 18:1 ω 9 возрастает только при резком снижении температуры с 18 до 10°C за 8 ч. Вероятно, накопление 16:0, 16:1 ω 7 и 18:1 ω 9 вызвано активизацией синтеза 16:0 *de novo* и повышением активности Δ 9-десатуразы. Явление гипериндукции Δ 9-десатураз при резком снижении температуры описано в литературе (Schuenke, Wodtke, 1983; Wodtke, Cossins, 1991; Tiku et al., 1996). В печени карпа было показано повышение содержания 18:1 ω 9 в ФЛ уже через сутки, а продукта ее элонгации – 20:1 ω 9 через 4 суток после резкого охлаждения (Trueman et al., 2000). В нашем случае повышение уровня 20:1 ω 9 в некоторых органах

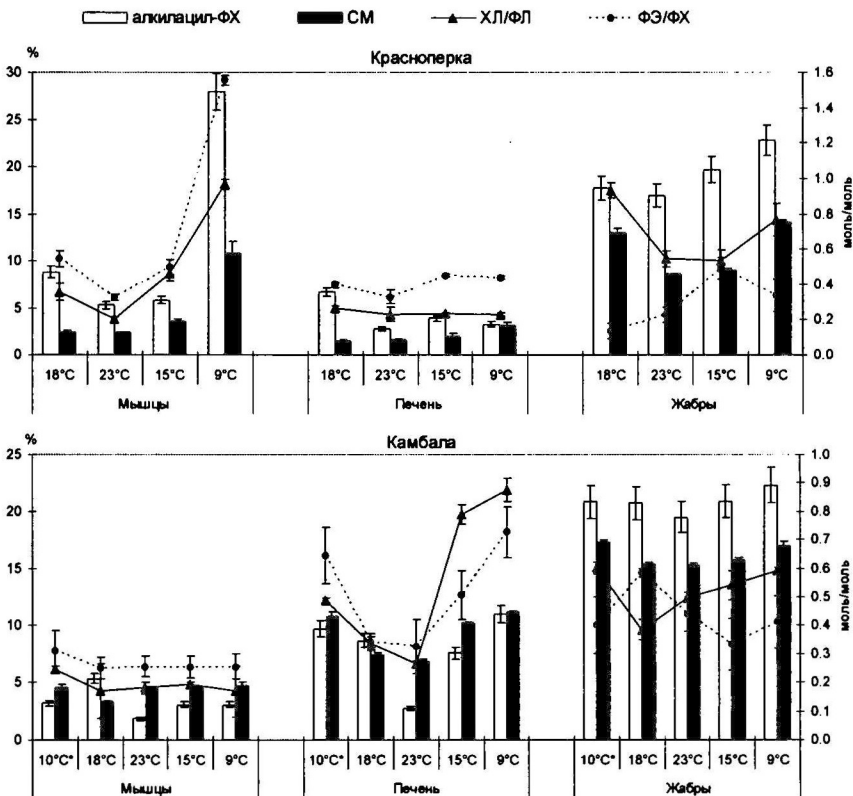


Рис. 4. Изменения содержания алкилацильных форм ФХ (% от суммы ФХ), СМ (% от суммы ФЛ) и молярных соотношений ХЛ/ФЛ и ФЗ/ФХ в органах краснопёрки и камбалы в ходе эксперимента по акклимации

упаковку гидрофобной части бислоя, преимущественно на уровне 12 углеродного атома (Fodor et al., 1995). При этом молекулярные виды МНЖК/ПНЖК ФЭ гораздо сильнее, чем такие же виды ФХ снижают вязкость мембран (Farkas et al., 1994). Это делает МНЖК/ПНЖК ФЭ наиболее подходящими ФЛ для компенсации физических параметров липидного бислоя при понижении температуры среды.

Содержание плазмалогенных видов ФЭ во всех органах исследованных видов увеличивается с повышением температуры. Известно, что плазмалогенные виды ФЛ обладают антиоксидантной активностью благодаря наличию енольной эфирной связи, которая становится целью для различных окислителей, таких как пероксидные радикалы, ионы металлов, атомарный кислород (Engelmann, 2004; Maeba, Ueta, 2004). Повышение температуры увеличивает интенсивность аэробных процессов и, как следствие, окислительное воздействие на мембраны (Lushchak, Vagnyukova, 2006), которое может быть ослаблено плазмалогенными формами.

Таким образом, долговременная акклиматизация к низким температурам в естественных условиях у красноперки, камбалы и керчака приводит к следующим общим изменениям в составе молекулярных видов:

в ФХ – повышение суммарного количества видов НЖК/ПНЖК и МНЖК/ПНЖК, содержащих ПНЖК 20:5, 22:5 и 22:6 и понижение суммы НЖК/НЖК и НЖК/МНЖК;

в ФЭ – повышение суммарного количества видов МНЖК/ПНЖК и понижение суммы НЖК/ПНЖК, НЖК/МНЖК и количества плазмалогенов.

Акклимационные изменения состава липидов органов рыб при быстром изменении температуры. Общей тенденцией в составе ФЛ органов рыб при повышении температуры воды с 18 до 23°C оказалось снижение количества ФЭ и, как следствие, молярного соотношения ФЭ/ФХ во всех органах красноперки и камбалы (рис. 4). Наиболее сильное изменение содержания ФХ и ФЭ наблюдалось в мышцах и печени красноперки. Повышение температуры воды с 18 до 23°C вызвало снижение показателя ФЭ/ФХ с 0.54 до 0.33 в мышцах и с 0.40 до 0.33 в печени этого вида.

Количество ХЛ и СМ при акклимации показало противоположные изменения, по сравнению с сезонной акклиматизацией. Резкое повышение температуры воды вызвало уменьшение, а снижение температуры – повышение молярного отношения ХЛ/ФЛ и содержания СМ в органах рыб (исключение – в жабры камбалы, где рост температуры сопровождался повышением значения ХЛ/ФЛ). Плавное охлаждение в течение недели до 9°C после нагревания до 23°C приводило либо к увеличению этих показателей, либо не сказывалось на них. Стоит отметить, что наиболее сильные изменения как отношения ХЛ/ФЛ, так и количества СМ, отмечены в мышцах и жабрах красноперки и печени камбалы

Изменения концентрации ДФГ при акклимации также противоположны тем, что наблюдались в естественной среде. Во всех органах, за исключением печени красноперки этот ФЛ показывает обратную температурную зависимость. Полученный нами результат согласуется с литературными данными, в которых отмечается увеличение числа митохондрий и пролиферация их внутренней мембраны при адаптации к понижению температуры среды обитания у рыб.

Эксперимент по акклимации рыб показал гораздо более выраженную зависимость состава ЖК главных ФЛ от температуры, по сравнению с естественной средой. Это достигается за счет минимизации влияния на состав липидов иных факторов, кроме температуры.

Изменения в составе ЖК фракции нейтральных липидов хорошо заметны как при резком понижении (с 18 до 10°C за 8 ч), так и повышении (с 18 до 23°C за 12 ч)

красноперки несколько снижается. Для печени всех видов характерна более сложная зависимость. Минимальное содержание НЖК/ПНЖК ФХ наблюдается при температурах 18 и 0°C, а максимальное – при 14 и 9°C.

Уровень МНЖК/ПНЖК ФХ возрастает при снижении температуры среды обитания с 18 до 0°C в жабрах всех видов и мышцах красноперки и керчака. В мышцах камбалы содержание этих видов ФХ показывает обратную зависимость от температуры исключительно за счет МНЖК/20:5. При этом в данном органе гораздо сильнее, чем во всех других образцах выражен рост суммы НЖК/ПНЖК (с 55.2% при 18°C до 73.8% при 0°C) и снижение суммы ПНЖК/ПНЖК ФХ (с 13.2% при 18°C до

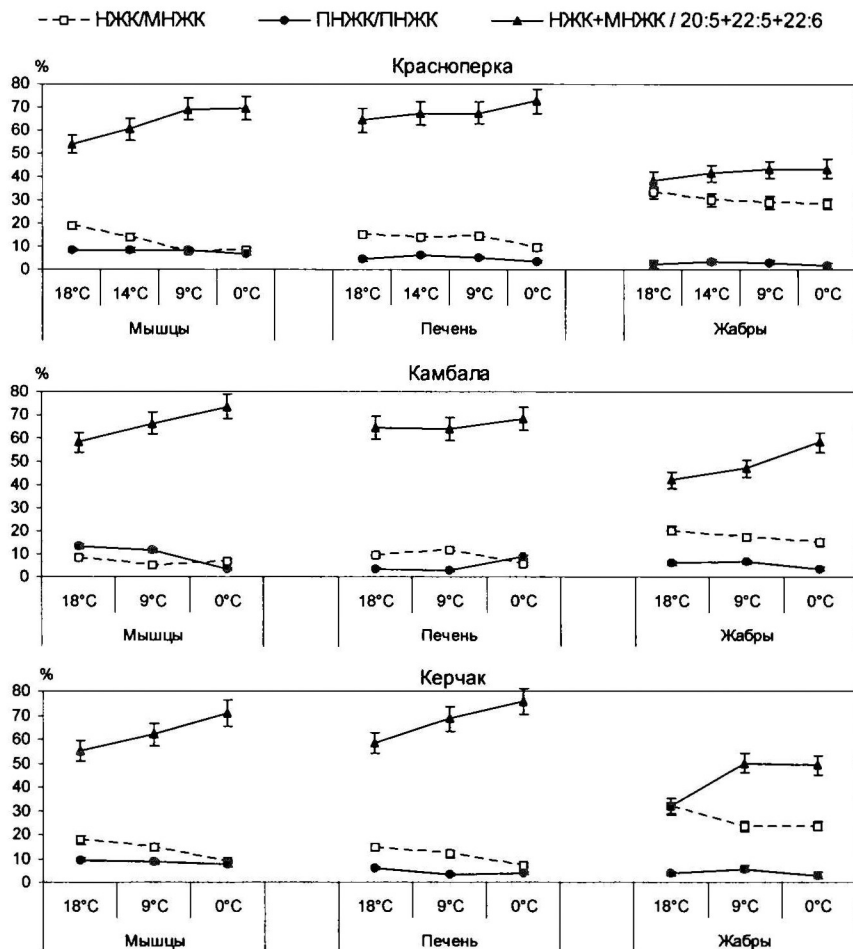


Рис. 2. Изменения содержания молекулярных видов ФХ (% от суммы ФХ) в органах красноперки, камбалы и керчака в ходе сезонной акклиматизации

3.2% при 0°C), особенно 20:5/20:5 (с 4.1 до 0.9%, соответственно) при снижении температуры, что можно рассматривать как компенсационный механизм. Такая зависимость может быть вызвана избытком ЖК 20:5 ω 3 в мышцах камбалы, в результате чего эта ЖК перераспределяется между молекулярными формами таким образом, чтобы сохранялась необходимая вязкость биолога. Повышенным содержанием 20:5 ω 3 также характеризуется ФХ мышц керчака (11.7 – 15.5%), но в этом случае количество МНЖК/20:5 видов стабильно высоко (10.5 – 11.0% - максимальный показатель среди всех образцов) и не зависит от температуры среды обитания вида. В печени всех видов исследованных рыб наблюдается диаметрально противоположные изменения содержания МНЖК/ПНЖК, по сравнению с НЖК/ПНЖК ФХ. Максимальное количество этих видов наблюдается при температуре 0°C, а минимальное – при 9 и 14°C.

Наиболее высоким содержанием ЖК 20:5 ω 3 (33.1%) отличается образец печени камбалы, выловленной при 9°C. Анализ состава молекулярных видов свидетельствует, что значительная часть ЖК 20:5 ω 3 в ФХ этого органа включена в состав алкилацильной формы 16:0/20:5, количество которой при 9°C составляет 10.9%, а при 18 и 0°C – 2.4 и 1.0%, соответственно. При этом количество диацил-16:0/20:5 ФХ изменяется не так существенно (с 20% при 18 и 0°C до 27.7% при 9°C). Также в печени камбалы при 9°C соотношение ХЛ/ФЛ, почти в 2 раза выше, чем при 18 и 0°C. Вероятно, стабилизирующий эффект холестерина, обладающего высоким родством к этерным формам ФЛ уравнивает возмущения, вносимые ЖК 20:5 ω 3 в упаковку липидного биолога.

Изменения содержания этерных форм ФХ зависят от органа. В печени и мышцах повышение сезонной температуры вызывает увеличение, а в жабрах – снижение их содержания, за исключением жабр керчака.

Главными молекулярными видами ФЭ являются 16:0/20:5, 16:0/22:6, 18:0/22:6, 18:1/20:5 и 18:1/22:6. Наиболее распространен 18:1/22:6 ФЭ, максимальное содержание диацил-18:1/22:6 достигает 32.5% (в печени керчака при 0°C), а его алкинилацильной формы – 10.6% (в жабрах керчака при 9°C). В ФЭ не обнаружены молекулярные виды НЖК/НЖК и гораздо ниже, чем в ФХ, уровень НЖК/МНЖК и МНЖК/МНЖК. При этом НЖК/МНЖК виды ФЭ преимущественно локализованы в жабрах. Суммарное содержание НЖК/ПНЖК в ФЭ сравнимо с таковым в ФХ и составляет в различных органах 18.5 – 67.8%. Наибольшее количество МНЖК/ПНЖК ФЭ содержится в печени, ПНЖК/ПНЖК – в мышцах. Уровень этерных ФЭ гораздо выше по сравнению с ФХ и достигает 42.3%. Главными этерными ФЭ являются алкинилацил-ФЭ, количество алкилацильных форм незначительно. Максимальное содержание этерных форм ФЭ характерно для жабр, минимальное – для печени.

В плане межвидовых отличий выделяется ФЭ камбалы, для которого отмечен высокий уровень НЖК/ПНЖК, особенно с ПНЖК 20:4 и 20:5, а также большее, чем в других видах, содержание плазмалогенных форм. ФЭ красноперки выделяется повышенным содержанием НЖК/22:6 и МНЖК/22:6 видов ФЭ.

При понижении температуры уровень НЖК/МНЖК в ФЭ уменьшается во всех органах всех исследованных видов (рис. 3). Уровень НЖК/ПНЖК ФЭ также зависит от температуры среды обитания: основной вклад вносит 18:0/22:6 ФЭ. Содержание других НЖК/ПНЖК видов также снижается при понижении температуры среды обитания, но не во всех органах рыб. Так, суммарное количество 20:5- и 22:6-содержащих НЖК/ПНЖК видов в ФЭ органов красноперки остается неизменным или увеличивается при понижении температуры. МНЖК/ПНЖК в ФЭ являются

антагонистами НЖК/ПНЖК видов, их количество во всех образцах возрастает с понижением температуры среды обитания. В количественном отношении наиболее выражено изменение относительного содержания 18:1/20:5, 18:1/22:5, 18:1/22:6 и 20:1/20:5 ФЭ. Содержание видов МНЖК/МНЖК и ПНЖК/ПНЖК ФЭ не коррелирует с температурой.

Из литературы известно, что введение двойной связи в sn-1 положении в структурные ФЛ мембран вносит значительный дестабилизирующий эффект в

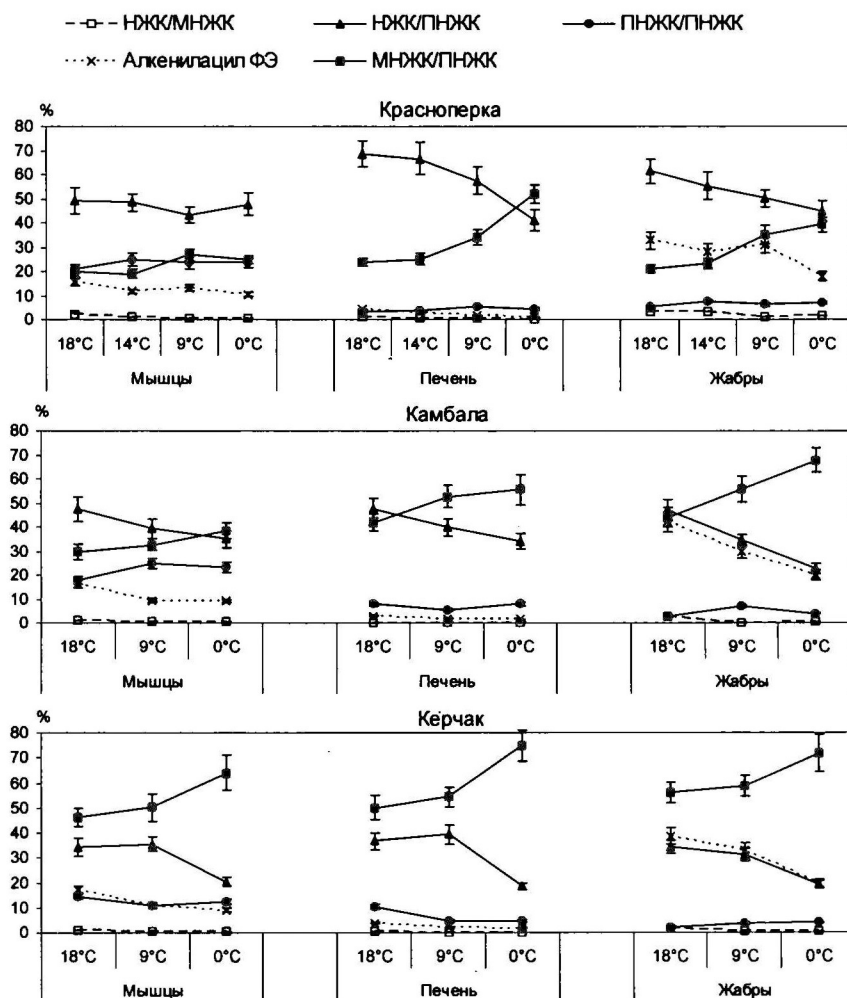


Рис. 3. Изменения содержания молекулярных видов ФЭ (% от суммы ФЭ) в органах красноперки, камбалы и керчака в ходе сезонной акклиматизации

наблюдается гораздо быстрее. При этом 16:1 ω 7, по-видимому, практически не подвергается элонгации, о чем свидетельствует постоянство количества 18:1 ω 7 и 20:1 ω 7 во всех органах красноперки и его снижение в органах камбалы. Плавное снижение температуры среды обитания с 23 до 9°C в течение 7 дней, после резкого нагревания с 18 до 23°C, приводит к снижению относительной концентрации продуктов липогенеза и десатураз, особенно 18:1 ω 9, в нейтральных липидах. Для МНЖК 18:1 ω 7 и 20:1 ω 7 показана обратная зависимость в органах камбалы: отмечается рост их содержания при снижении температуры с 23 до 9°C. В красноперке количество всех ω 7 МНЖК остается практически неизменным.

По-видимому, именно скорость изменения температуры среды является ключевым фактором, приводящим к гипериндукции липогенеза и десатуразной активности. Во-первых, изменения состава ЖК нейтральных липидов в органах камбалы при переходе от 18 к 23°C и от 18 к 10°C практически идентичны. Во-вторых, снижение температуры воды до 9°C в течение недели, следующее за резким нагреванием до 23°C, уже на 4 суток приводит к уменьшению концентраций продуктов липогенеза и десатурации, т.е. приводит к угнетению этих процессов.

Резкая смена температуры среды обитания оказывает различное влияние на состав ПНЖК нейтральных липидов рыб. Показательным оказалось распределение 22:6 ω 3 в нейтральных липидах камбалы. Эта ЖК оказалась единственной, изменение концентрации которой зависело от направления резкого изменения температуры. Во всех органах камбалы снижение температуры среды обитания с 18 до 10°C уменьшало, а повышение с 18 до 23°C – увеличивало концентрацию этой ЖК. Снижение содержания ЖК 22:6 ω 3 можно объяснить ускорением ее катаболизма при понижении температуры среды обитания, а увеличение может быть вызвано активизацией терминальной стадии синтеза этой кислоты или ее транспортом из жировой ткани. Особенно показательны изменения уровня ПНЖК при плавном снижении температуры с 23 до 9°C в течение недели для красноперки. В печени этого вида при 9°C значительно возрастает содержание суммы ПНЖК (с 9.6 до 28.2%), в основном за счет кислот 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 и 22:6 ω 3. Данный факт свидетельствует о способности красноперки к синтезу ω 3 и ω 6 ПНЖК, что является отличительной чертой пресноводных видов. Учитывая, что способность к синтезу ПНЖК была найдена у атлантического лосося (Tocher et al., 1997), можно предположить, что данная особенность характерна для видов рыб, проводящих определенную часть жизненного цикла в пресной воде.

Изменения в составе ЖК нейтральных липидов в ходе температурной акклимации отражаются и на главных ФЛ. При резком повышении температуры среды обитания в ФХ увеличивается содержание ЖК 18:0 в мышцах и 18:1 ω 9, 20:1 ω 9 во всех органах красноперки и камбалы. При этом уровень 16:1 ω 7 в ФХ остается неизменным или незначительно снижается. Наиболее заметно повышение количества ЖК 18:1 ω 9 (в 1.2 – 1.6 раз). Однако при последующем снижении температуры до 9°C уровень этих ЖК в ФХ уменьшается. Аналогичным образом изменяется содержание 22:6 ω 3 – резкое повышение температуры с 18 до 23°C приводит к заметному увеличению количества этой ЖК в ФХ (за исключением мышц красноперки), а последующее охлаждение воды с 23 до 9°C за 7 дней к его снижению. Прямо противоположные изменения происходят с ЖК 20:4 ω 6 и 20:5 ω 3. При 23°C концентрация этих ЖК в печени и жабрах камбалы и печени и мышцах красноперки снижается, а затем снова возрастает. В органах камбалы такая тенденция характерна также для 22:5 ω 3. Отмечается видовая специфичность изменения концентрации

18:1ω7 в ФХ. Во всех органах красноперки содержание этой ЖК меняется аналогично 18:1ω9, в печени и мышцах камбалы оно противоположно, т.е. понижается при повышении температуры воды с 18 до 23°C и возрастает при ее снижении до 9°C.

Резкое перемещение камбалы из среды с температурой 18°C в аквариум с температурой 10°C через 8 ч приводит к последствиям, аналогичным наблюдаемым при нагревании: в ФХ печени повышается количество 18:0, 18:1ω9 и 20:1ω9. Также, при резком снижении температуры среды обитания в ФХ печени и жабр камбалы возрастает содержание ЖК 22:5ω3 и 22:6ω3. В ФХ мышц камбалы при этом наблюдается только незначительный рост содержания 20:5ω3.

Основной тенденцией изменений в ЖК составе ФЭ, как при резком нагревании воды, так и ее охлаждении, является повышение содержания ЖК 18:1ω9 во всех органах камбалы и красноперки (в среднем в 1.5 и 1.2 раза при нагревании до 23°C, соответственно). Также наблюдается рост уровня ЖК 20:1ω9 в ФЭ в большинстве органов красноперки и камбалы при резкой смене температур. В мышцах и печени красноперки содержание МНЖК 18:1ω7 в ФЭ изменяется аналогично 18:1ω9, а у камбалы – противоположным образом (понижается при повышении температуры с 18 до 23°C и возрастает при снижении до 9°C). Для ФЭ камбалы отмечено, что концентрация 20:1ω7 меняется аналогично 18:1ω7. Таким образом, изменения концентраций С20 МНЖК в ФХ и ФЭ как при быстром снижении, так и повышении температуры среды обитания, аналогичны изменениям концентрации их предшественников – МНЖК С18. Такая зависимость может свидетельствовать о том, что образование С20 из С18 МНЖК путем элонгации идет постоянно, и скорость этого процесса не меняется при быстрых изменениях температуры среды обитания.

Содержание НЖК в ФЭ всех органов камбалы возрастает при повышении температуры с 18 до 23°C, причем наиболее существенно в печени (с 20.4 до 29.9%). Плавное охлаждение с 23 до 9°C приводит к снижению содержания НЖК в печени и жабрах камбалы. В красноперке при нагревании воды до 23°C возрастает содержание только ЖК 18:0 в мышцах и печени, а содержание 16:0 в мышцах и жабрах снижается. В ФЭ всех органов красноперки последующее понижение температуры приводит к снижению уровня НЖК. Быстрое перемещение камбалы из среды с температурой 18°C в аквариум при 10°C практически не сказалось на содержании НЖК в ФЭ.

Количество ПНЖК в ФЭ в ходе эксперимента изменялось практически так же, как и в ФХ. Основные тенденции наиболее ярко проявляются в печени камбалы: повышение температуры воды с 18 до 23°C в течение 12 ч вызывает снижение количеств ЖК 20:4ω6, 20:5ω3, 22:5ω3 и 22:6ω3, а последующее охлаждение с 23 до 9°C за 7 дней – их рост. В мышцах камбалы уровень 22:6ω3 в ФЭ, как и в ФХ этого органа, возрастает при 23°C, а при охлаждении до 9°C снижается. В ФЭ красноперки наблюдаются те же, но несколько слабее выраженные тенденции. Так, снижение уровня 20:4ω6 и 20:5ω3 при повышении температуры до 23°C отмечается только в печени. Содержание ЖК 22:6ω3 в ФЭ мышц красноперки не меняется, а в печени и жабрах отмечается его рост при повышении температуры с 18 до 23°. Влияние резкого снижения температуры с 18 до 10°C в течение 8 ч на ПНЖК ФЭ камбалы заключается в уменьшении количества 22:6ω3 во всех органах и повышении содержания 22:5ω3 и 20:5ω3 в печени и жабрах.

Резкое повышение температуры с 18 до 23°C в течение 12 ч достаточно сильно влияет на состав молекулярных видов ФХ (рис. 5). Во всех образцах, кроме жабр красноперки и мышц камбалы значительно возрастает уровень НЖК/МНЖК ФХ, при

этом содержание 16:0/18:1 увеличивалось в 1.5 – 1.8 раз. Дальнейшее понижение температуры до 9°C вызвало снижение количества НЖК/МНЖК ФХ во всех без исключений случаях. Так, в мышцах красноперки содержание 16:0/18:1 ФХ уменьшилось с 12.1% при 23°C до 0.4% при 9°C. Содержание МНЖК/МНЖК ФХ имеет обратную зависимость от температуры среды в жабрах красноперки и мышцах камбалы, в остальных органах – прямую.

Изменения суммарного содержания НЖК/ПНЖК ФХ при изменениях температуры не позволяют выявить общей тенденции. Однако при рассмотрении изменений содержания индивидуальных молекулярных видов отмечено, что повышение температуры приводит к росту содержания 16:0/22:6 и 18:0/22:6 ФХ во всех образцах, в то время как понижение температуры воды или не сказывается на их концентрации, или вызывает ее снижение. Содержание суммы НЖК/20:5 ФХ при резком повышении температуры уменьшается, а при последующем ее снижении возрастает во всех органах красноперки и камбалы.

Изменения температуры среды обитания практически не сказываются на сумме МНЖК/ПНЖК ФХ рыб, за исключением печени и жабр красноперки. В этих органах

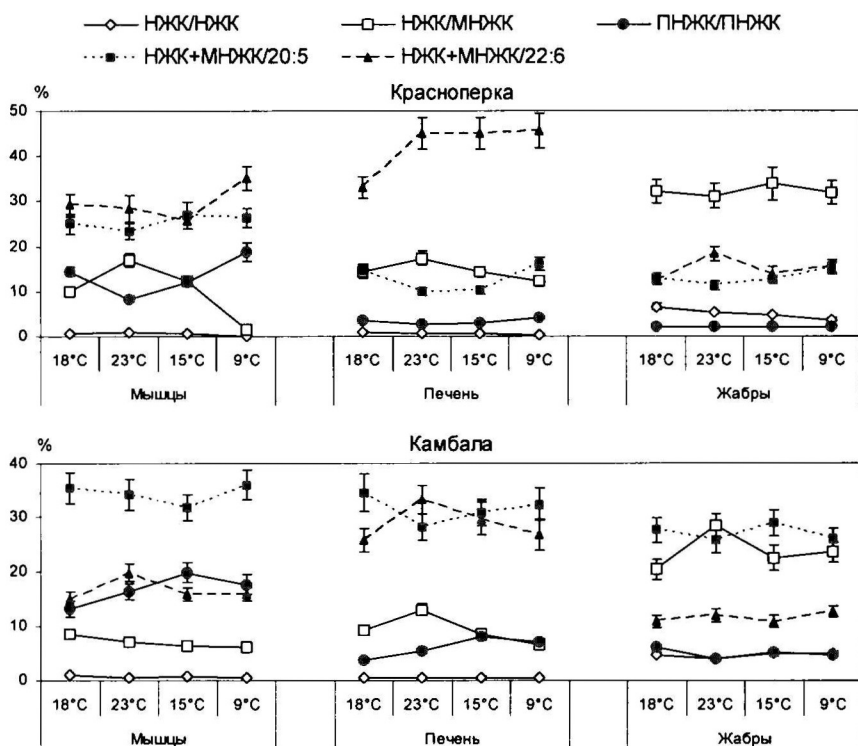


Рис. 5. Изменения содержания молекулярных видов ФХ (% от суммы ФХ) в органах красноперки и камбалы в процессе акклимации

количество 18:1/22:6 ФХ возрастает при повышении и уменьшается при снижении температуры воды, а для 18:1/20:5 показана обратная зависимость. Сумма ПНЖК/ПНЖК ФХ в мышцах и печени камбалы возросла при быстром повышении температуры воды, в остальных органах камбалы и красноперки – снизилась.

Состав молекулярных видов ФХ камбалы через 8 часов после охлаждения с 18 до 10° изменился слабо. Наблюдается увеличение суммарного количества ПНЖК/ПНЖК видов в мышцах (с 13.2 до 17.1%) и печени (с 3.6 до 6.0%). По-видимому, 8 часов – незначительный временной интервал для проявления перестроек в составе молекулярных видов ФХ.

Во всех исследованных органах рыб количество алкилацильных форм ФХ имело обратную зависимость от температуры. Интересно отметить тот факт, что если при акклимации во всех органах красноперки и камбалы уровень алкилацил-ФХ всегда возрастает при понижении температуры (рис. 4), то снижение температуры в естественной среде обитания приводит к снижению концентрации алкилацил-ФХ в мышцах камбалы и печени красноперки и керчака (рис. 1). При этом изменения в содержании алкилацил-ФХ во всех органах всех исследованных видов однонаправленны с таковыми для количества ХЛ и СМ как при сезонной акклиматизации, так и при экспериментальной акклимации. Известно, что ФХ, содержащий алкильную связь, гораздо активнее встраивается в конденсированные мембранные микродомены (Mattjus et al., 1996). Таким образом, однонаправленные изменения количества ХЛ, СМ и алкилацил-ФХ свидетельствуют о том, что температура воздействует не на содержание отдельных липидов, а на количество определенных мембранных структур, какими являются конденсированные микродомены.

При повышении температуры воды с 18 до 23°C в течение 12 ч в ФЭ всех органов красноперки и камбалы (исключение - мышцы камбалы), возрастает количество МНЖК/22:6, а содержание видов МНЖК/20:5 и МНЖК/22:5 снижается или остается неизменным. При последующем охлаждении с 23 до 15°C показана обратная зависимость для этих молекулярных форм. Выявлена аналогичная тенденция для МНЖК/ПНЖК видов ФЭ. Содержание МНЖК/22:6 имеет прямую зависимость от температуры, остальных видов МНЖК/ПНЖК – обратную (рис. 6). Уровень ПНЖК/ПНЖК в ФЭ так же, как и в ФХ, в основном показывает обратную зависимость от температуры.

Наиболее заметным воздействием быстрого снижения температуры с 18 до 10°C за 8 ч в ФЭ камбалы явилось незначительное (в среднем на 2.5%) повышение уровня ПНЖК/ПНЖК во всех органах.

Суммарное содержание плазмалогенных форм ФЭ в эксперименте по акклимации не показывает явной температурной зависимости. Это связано с тем, что внутри этого подкласса ФЭ изменения идут разнонаправленно и повторяют закономерности для ПНЖК-содержащих молекулярных видов диацил-ФЭ. Содержание алкенилацильных форм ФЭ с ЖК 20:5 или 22:5 снижается при повышении температуры, а количество алкенилацил-ФЭ, содержащих 22:6, в большинстве органов показывает противоположную зависимость от температуры.

Известно, что на содержание алкенилацильных форм ФЭ влияет как непосредственно температура, так и концентрация кислорода (Chang, Roots, 1985). Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии прямой зависимости между содержанием алкенилацил-ФЭ и температурой в естественной среде обитания, но не

при быстрой акклимации. Возможно, повышение температуры воды до 23° в течение 12 ч – недостаточный срок для активации синтеза акенилацил-ФЭ у рыб.

Можно заключить, что акклимация к быстрому снижению температур в мышцах, печени и жабрах красноперки и камбалы включает следующие механизмы регуляции свойств гидрофобной части главных мембранных ФЛ:

в ФХ – рост содержания видов НЖК/20:5, МНЖК/20:5, суммы ПНЖК/ПНЖК, снижение количества НЖК/НЖК, НЖК/МНЖК и НЖК/22:6, увеличение уровня алкилацил-ФХ;

в ФЭ – рост содержания видов НЖК/ПНЖК и МНЖК/ПНЖК, содержащих ЖК 20:5 и 22:5, суммы ПНЖК/ПНЖК, снижение НЖК/ПНЖК и МНЖК/ПНЖК, содержащих ЖК 22:6.

Таким образом, в процессе долговременной адаптации к холоду главная роль в перестройках молекулярного состава ФХ и ФЭ в органах рыб принадлежит ЖК 20:5 и МНЖК, а при кратковременной акклимации – исключительно 20:5. Адаптационные процессы, регулирующие параметры гидрофобной части бислоя, включают в себя изменения состава ЖК, их сочетания в молекуле ФЛ и изменения количества

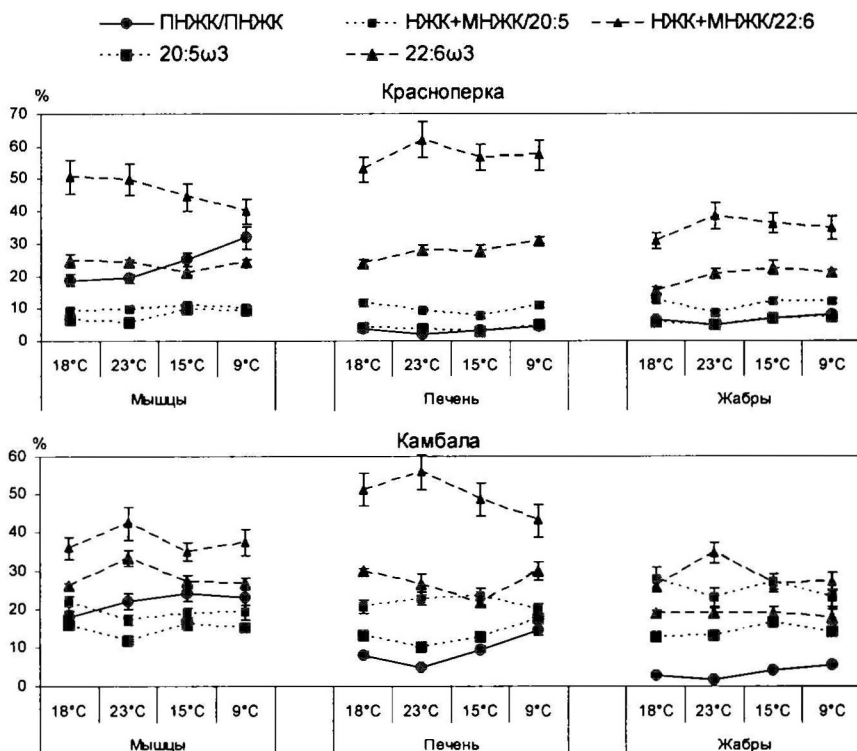


Рис. 6. Изменения содержания молекулярных видов ФЭ (% от суммы ФХ) и ЖК 20:5ω3 и 22:6ω3 (% от суммы ЖК) в органах красноперки и камбалы в ходе акклимации

холестерина. При общей направленности стратегии изменения состава липидов органов рыб в ходе адаптации к изменениям температуры среды обитания, механизмы и степень их проявления могут варьировать в зависимости от органа и вида животного.

ВЫВОДЫ

1. Адаптация рыб к понижению температуры, как в естественной среде обитания, так и при акклимации сопровождается повышением соотношения фосфатидилэтаноламин / фосфатидилхолин во всех органах исследованных видов рыб.
2. Изменение температуры естественной среды обитания и быстрая акклимация приводит к одностороннему изменению содержания главных липидных компонентов микродоменных структур – холестерина, сфингомиелина и алкильных видов фосфатидилхолина в печени и мышцах рыб. При сезонной акклиматизации к понижению температуры их концентрация снижается, в то время как при быстром понижении температуры – повышается. Изменения этих показателей в жабрах рыб видоспецифичны.
3. Сезонная акклиматизация и акклимация к быстрой смене температуры среды обитания реализуются через различные способы изменения состава молекулярных видов главных фосфолипидов в органах рыб. Акклиматизация к понижению температуры приводит к повышению количества молекулярных видов фосфатидилхолина, содержащих мононенасыщенную или насыщенную кислоты в одном из sn- положений и 20:5 или 22:6 в другом sn- положении, и видов фосфатидилэтаноламина, содержащих мононенасыщенную и полиненасыщенную кислоты. Акклимация к быстрому понижению температуры сопровождается повышением количества молекулярных видов фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, содержащих 20:5 в одном из sn- положений и видов, содержащих полиненасыщенные кислоты в обоих sn- положениях.
4. Установлено, что акклимация к резким изменениям температуры среды сопровождается повышением количества продуктов Δ9-десатураз (16:1ω7 и 18:1ω9) и липогенеза (16:0) в нейтральных липидах, фосфатидилхолине и фосфатидилэтаноламине в органах красноперки и камбалы.
5. Адаптация к понижению температуры в отсутствие питания в течение 7 дней приводит к существенному накоплению ω3 и ω6 полиненасыщенных жирных кислот в нейтральных липидах мелкочешуйной красноперки, что указывает на способность данного вида к их синтезу *de novo*.

Список публикаций по теме диссертации

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах:

1. Веланский, П.В., Костецкий, Э.Я. Липиды морских холодноводных рыб // Биол. моря. 2008. Т. 34. № 1. С. 53-57.
2. Веланский, П.В., Костецкий, Э.Я. Термоадаптация и состав жирных кислот главных фосфолипидов мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandti* в естественных и экспериментальных условиях // Биол. моря. 2009. Т. 35. № 5. С. 372-377.

Работы, опубликованные в материалах региональных и международных конференций:

3. Веланский, П.В. Липидный состав различных органов рыб // Актуальные проблемы экологии, морской биологии и биотехнологии: Мат. 5-й регион. конф. Владивосток, 2002 г. Владивосток: Изд-во Дальневост. Ун-та, 2002. С. 21.
4. Веланский, П.В. Термотропное поведение основных фосфолипидов мышечной ткани рыб // Морская биота: Мат. науч. конф. НОЦ ДВГУ. Владивосток, 2002 г. Владивосток: Изд-во Дальневост. Ун-та, 2002. С. 88.
5. Sanina, N.M., Kostetsky, E.Y. Velansky, P.V. On thermoadaptation molecular mechanism of marine invertebrates // Biochemistry and Molecular Biology: Abstr. of 18th Int. Congr. Birmingham, UK, 2003. P. 386.
6. Velansky, P.V., Sanina, N.M., Kostetsky, E.Y. Thermotropic behavior of major phospholipids from muscle tissue of marine fish // Abstr. of 4th Eur. Biophys. Congr. Alicante, Spain, 2003. Eur. Biophys. J. 2003. V. 32. № 3. P. 279.
7. Гончарова, С.Н., Веланский, П.В., Жарова, В.В., Санина, Н.М., Костецкий, Э.Я. Анализ молекулярных видов моногалактозилдиацилглицерина, выделенного из морской травы *Zoostera marina* // Экологические проблемы использования прибрежных морских акваторий: Мат. межд. научно-практ. конф. Владивосток, 2006 г. Владивосток: Изд-во Дальневост. Ун-та, 2006. С. 42-44
8. Воробьева, Н.С., Веланский, П.В., Санина, Н.М. Жирнокислотный состав липидов *Myoxocephalus jaok*, собранного в разных акваториях залива Петра Великого // Экология России и сопредельных территорий: Мат. XV-й межд. экол. конф. Новосибирск, 2010. С. 54.

